

VU Research Portal

Giftige Gronden

van Gestel, Kees

2019

document version

Publisher's PDF, also known as Version of record

[Link to publication in VU Research Portal](#)

citation for published version (APA)

van Gestel, K. (2019). *Giftige Gronden: grond tot zorg over ecologische effecten van gif in de bodem*.

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

E-mail address:

vuresearchportal.ub@vu.nl

prof.dr.ir. C.A.M. van Gestel

GIFTIGE GRONDEN

grond tot zorg over ecologische effecten van gif in de bodem



VRIJE
UNIVERSITEIT
AMSTERDAM

prof.dr.ir. C.A.M. van Gestel

GIFTIGE GRONDEN

grond tot zorg over ecologische effecten van gif in de bodem

Rede uitgesproken bij de aanvaarding van het ambt van hoogleraar Ecotoxicology of Soil Ecosystems, aan de Faculteit der Bètawetenschappen van de Vrije Universiteit Amsterdam op 14 november 2019.

*Meneer de Rector,
Meneer de Decaan,
Dames en heren, collega's, studenten, familie, vrienden, andere belangstellenden,*

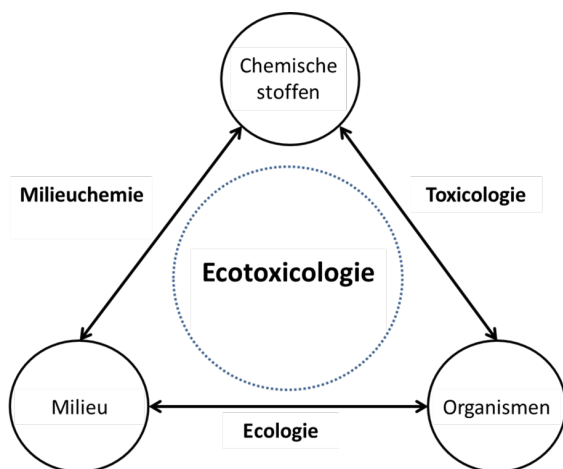
Als boerenzoon werkte ik vaak op het land en daardoor ontwikkelde ik al vroeg een speciale band met de bodem. In die tijd, de jaren zestig en zeventig van de vorige eeuw, was het boerenbedrijf van mijn ouders relatief kleinschalig; veel gebeurde nog met de hand. Er werden soms wel bestrijdingsmiddelen gebruikt, maar op zeer beperkte schaal. En daar werd nauwelijks over gesproken. Tegenwoordig horen we vaker over bestrijdingsmiddelen en hun mogelijke neveneffecten. Het meest in het oog springen berichten over mogelijke risico's voor de volksgezondheid, zoals bij omwonenden van lelievelden waarop een heel scala aan middelen wordt toegepast. Ook is er in de afgelopen jaren veel te doen geweest over effecten van neonicotinoïden op honingbijen. Deze bestrijdingsmiddelen zouden ook een rol spelen in de sterke afname van het aantal insecten, dat recent in het nieuws was (zie o.a. Sánchez-Bayo & Wyckhuys, 2019). Veel minder hoor je over effecten op het leven in de bodem, terwijl dat toch de plaats is waar een groot deel van deze middelen uiteindelijk terecht komt. De bodem is het natuurlijke kapitaal waarop we ons voedsel verbouwen. Een gezonde bodem is van groot belang voor ons bestaan. Genoeg reden om onderzoek te doen naar de ecotoxicologische effecten van bestrijdingsmiddelen en andere stoffen in de bodem. Dat is het onderwerp van de leerstoel *Ecotoxicology of Soil Ecosystems*, die ik met deze rede officieel wil aanvaarden.

Ecotoxicologie

Voor de geschiedenis van het vakgebied Ecotoxicologie wordt vaak verwezen naar het boek *Silent Spring* (ofwel 'stille lente') van Rachel Carson, in het Nederlands vertaald als *Dode Lente*. In dit boek gaat ze uitgebreid in op allerlei effecten in het milieu, die een gevolg zijn van het gebruik van bestrijdingsmiddelen als DDT en andere gechloreerde verbindingen, dat na de tweede wereldoorlog sterk toenam. Bestrijdingsmiddelen als DDT zijn erg persistent, dus slecht afbreekbaar, en blijven daardoor lang in het milieu aanwezig. Ook zijn ze erg lipofiel, wat wil zeggen dat ze zich goed ophopen in vetweefsel en daarmee makkelijk stapelen in voedselketens. Zelfs nu deze stoffen al lang niet meer worden gebruikt, worden ze nog steeds in het milieu aangetroffen. DDE, het omzettingproduct van DDT, zorgt er in vogels onder andere voor dat de eischaal

dunner wordt, waardoor de eieren sneller stuk gaan en de jonge vogels sterven nog voordat ze uit het ei kunnen komen. Het gevolg is dat de populaties van verschillende vogelsoorten instortten. Dat verklaart het fenomeen *Silent Spring*, dat Rachel Carson beschreef.

Ecotoxicologie is het vakgebied dat zich bezighoudt met de effecten van chemische stoffen in het milieu, met als doel vast te stellen hoe deze effecten tot stand komen, bij welke concentraties in het milieu ze optreden en wat de mogelijke risico's zijn voor ecosystemen. Om dit te realiseren wordt gebruik gemaakt van kennis uit diverse disciplines. Voor de ecotoxicologie zijn vooral drie vakgebieden van belang, nl. milieuchemie, toxicologie en ecologie, zoals weergegeven in deze driehoek (Figuur 1).



Figuur 1: *Ecotoxicologie bestudeert de interacties tussen stoffen, organismen en ecosystemen en maakt gebruik van kennis van de milieuchemie, toxicologie en ecologie.*

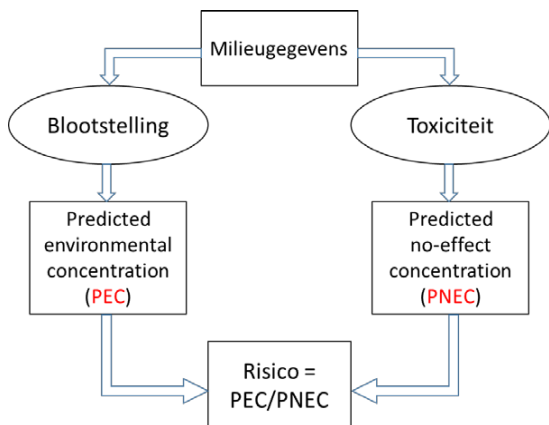
De *Milieuchemie* bestudeert hoe stoffen zich verspreiden in het milieu, zoals bijvoorbeeld de mate van uitspoeling naar het grondwater, de opname in planten of de verdamping naar de lucht. Dat bepaalt de *blootstelling* van organismen en ecosystemen. Vanuit de kennis over persistentie, omzettingprocessen en de binding aan de bodem, helpt de milieuchemie de mate van blootstelling vast te stellen. Die wordt uitgedrukt in zogenaamde *Predicted Environmental Concentrations* (PEC), schattingen van de concentratie in een milieu-compartiment, die het uitgangspunt zijn voor de risicobeoordeling van stoffen in het milieu.

Kennis van de blootstelling is essentieel voor de *Toxicologie*, het vakgebied dat de giftigheid van stoffen bestudeert. De basis voor de toxicologie is gelegd door Paracelsus, een alchemist uit Salzburg (1493-1541), met zijn uitspraak “*Alle Ding sind Gifft. Allein die Dosis macht daß ein Ding kein Gifft ist*”. Dit betekent: alles is giftig, maar de dosis, ofwel de mate van blootstelling, bepaalt welke effecten zullen optreden. Dit is de basis voor de dosis-effectrelatie, het instrument waarmee we in de (eco)toxicologie de giftigheid van stoffen bepalen. De toxicologie stelt niet alleen vast hoe giftig een stof is, maar probeert ook te achterhalen hoe de stof werkt, door te onderzoeken op welke processen in het lichaam de stof aangrijpt. Dat is van belang om enerzijds mogelijke lange-termijn effecten te kunnen voorspellen en anderzijds in te kunnen grijpen in het geval van vergiftiging. In de ecotoxicologie wordt de giftigheid van stoffen meestal bepaald in eenvoudige laboratoriumtesten met enkele soorten, zoals regenwormen, springstaarten of planten. Met de informatie die hiermee wordt verkregen, wordt geprobeerd een veilige concentratie voor ecosystemen af te leiden, die wordt aangeduid als de *Predicted No-Effect Concentration* (PNEC). Een goede PNEC afleiden is overigens niet zo eenvoudig.

De *Ecologie* bestudeert de interacties tussen organismen onderling en tussen organismen en het abiotische milieu, ofwel de interacties die verklaren hoe ecosystemen eruit zien. De ecologie probeert een antwoord te vinden op vragen als: waarom komen welke soorten voor in een bepaald milieu, en in welke onderlinge relatie? Wat doen de soorten binnen ecosystemen, wat is hun rol, en hoe dragen ze bij aan het functioneren van het ecosysteem? Wat is het mogelijke effect van het wegvallen van soorten op het functioneren van het ecosysteem? Deze kennis kan helpen effecten, die zijn waargenomen in eenvoudige laboratoriumtesten met enkele soorten, te vertalen naar effecten op populaties, levensgemeenschappen en ecosystemen. Kennis van de ecologie van organismen, zoals van hun gedrag in het milieu, kan ook helpen hun blootstelling beter in te schatten. Dit is zeker in een heterogeen milieu als de bodem geen sinecure. En kennis van de ecologie, zoals de levenscyclus van een soort, kan helpen effecten op populatieniveau te voorspellen. Hiermee kunnen we een bijdrage leveren aan het beschermen van het functioneren van ecosystemen, en daarmee van processen die we tegenwoordig aanduiden als *ecosysteemdiensten*.

In de *risicobeoordeling* komen deze aspecten samen: het risico van stoffen wordt enerzijds bepaald door de mate van blootstelling (de PEC) en anderzijds door de gevoeligheid van het systeem, aangeduid met de PNEC (Figuur 2). Omdat de

PNEC doorgaans wordt afgeleid op basis van de resultaten van toxiciteitstesten, die worden uitgevoerd in het laboratorium, is het belangrijk dat deze testen representatief zijn voor het te beschermen ecosysteem. Dat betekent dat bij voorkeur organismen worden gebruikt, die in het ecosysteem voorkomen en alle belangrijke taxonomische groepen vertegenwoordigen. Anderzijds is het niet mogelijk alle soorten te testen; we kennen niet eens alle soorten die in de bodem leven, en veel soorten kunnen niet gekweekt worden in het laboratorium. Het is ook belangrijk dat testresultaten reproduceerbaar zijn. Om die reden is tegenwoordig een aantal testen gestandaardiseerd, zoals met regenwormen, springstaarten, potwormen en planten. Om in de risicobeoordeling tot een goede schatting van de PNEC te komen, wordt een veiligheidsfactor toegepast op de verkregen toxiciteitsgegevens. Die veiligheidsfactor moet er voor zorgen dat rekening wordt gehouden met de kans dat er soorten zijn, die nog gevoeliger zijn dan de soorten die in het onderzoek zijn meegenomen. Het risico wordt uiteindelijk bepaald door de mate waarin de PEC de PNEC overschrijdt.



Figuur 2: De risicobeoordeling van stoffen bestaat uit verschillende stappen. Een analyse van de emissie en de lotgevallen in het milieu geeft een schatting van te verwachten blootstellingsconcentraties (PEC). Bepaling van de toxiciteit geeft bouwstenen voor de afleiding van veilige concentraties in het milieu (PNEC). Het risico wordt bepaald door de mate waarin de PEC de PNEC overschrijdt.

Bodemecotoxicologie

Al in de periode tussen 1950 en 1960 werden door Sheals (1953, 1956) studies uitgevoerd naar de effecten van bestrijdingsmiddelen, met name DDT en lindaan, op bodemarthropoden. Deze studies lieten zien dat deze bestrijdingsmiddelen de bodemfauna sterk konden reduceren, en ook dat er sprake is van verschillen in gevoeligheid tussen bijvoorbeeld springstaarten en roofmijten, hun natuurlijke

vijanden, waardoor ook predator-prooi-relaties worden beïnvloed (Edwards & Lofty, 1973; Sheals, 1953). Een plaagorganisme kan zelfs profiteren van de toepassing van een bestrijdingsmiddel wanneer de natuurlijke vijanden nog gevoeliger zijn en daardoor wegvallen. Daarmee werd toen al aangetoond dat er zowel directe als indirecte effecten kunnen optreden. Deze informatie had nog geen invloed op het toelatingsbeleid van deze middelen, en er werd ook nog geen relatie gelegd met mogelijke gevolgen voor het functioneren van de bodem. Dit principe kreeg wel toepassing in de geïntegreerde bestrijding, waarbij natuurlijk vijanden worden ingezet om ziekten en plagen te bestrijden.

Aan het eind van de jaren zestig van de vorige eeuw werd de fruitteelt in Duitsland getroffen door aantastingen met meeldauw, een schimmelziekte. Om deze ziekte te bestrijden werd een fungicide ingezet met als werkzame stof benomyl. Al snel bleek dat de schimmel juist profiteerde van de toepassing, en in jaren na gebruik van dit middel eerder in het seizoen en nog heftiger toesloeg dan daarvoor. Wat was hier aan de hand? Kennel (1968, 1972) liet zien dat dit kwam doordat de schimmel op met benomyl behandelde percelen kon overwinteren in het strooisel, het gevallen blad, dat niet meer werd opgeruimd. Dit was een gevolg van het verdwijnen van regenwormen. Stringer & Wright (1973) lieten zien dat met name de grotere en diepgravende soort *Lumbricus terrestris*, die een belangrijk aandeel heeft in de strooiselafbraak, verdween door toepassing van benomyl. Omdat deze soort 's nachts aan het bodemoppervlak komt, ervaart hij een extra grote blootstelling. En zijn lange levenscyclus en lage voortplantingssnelheid maakten herstel onmogelijk vóórdat de volgende toepassing van benomyl plaatsvond. Andere regenwormsoorten zijn ook gevoelig voor benomyl, maar konden vaak wel binnen een jaar herstellen. Ook dit voorbeeld laat zien dat bestrijdingsmiddelen bodemecosystemen kunnen aantasten, en ook dat dit dan kan leiden tot effecten die voor de landbouw zelf nadelig zijn. Eigenlijk vreemd dat de landbouw hier niet van heeft geleerd, en nog steeds middelen gebruikt die de gezondheid van de bodem aantasten. Dadelijk meer hierover.

Het boek van Rachel Carson en het werk van Kennel en anderen hebben ertoe bijgedragen dat er regelgeving is ontwikkeld ten aanzien van bestrijdingsmiddelen en andere stoffen. Deze regelgeving maakt gebruik van testen met bodemorganismen om het risico van stoffen te kunnen voorspellen. Alleen stoffen die geen onaanvaardbaar risico met zich meebrengen krijgen een toelating. De ontwikkeling van testen voor de bodem begon met een kortdurende, acute toxiciteitstest met regenwormen (OECD, 1984), waarin overleving het eindpunt

is. We hebben zelf bijgedragen aan het ontwikkelen van testen met regenwormen en andere bodemorganismen, zoals springstaarten, mijten en pissebedden, waarin ook sub-letale en voor het ecosysteem meer relevant eindpunten, zoals groei en voortplanting, worden meegenomen (Løkke & Van Gestel, 1998). Maar dat zijn enkel-soorts-testen, waarin nog niet wordt gekeken naar effecten op interacties tussen soorten. Daarom hebben we in het Europese TME project meegewerkt aan de ontwikkeling van testen met modelecosystemen, waarin het effect van een stof op hele bodemecosystemen kan worden onderzocht (Knacker et al., 2004).

Toch zijn deze testen nog niet voldoende om effecten vast te stellen van alle stressfactoren waarmee de bodem wordt geconfronteerd. Zo is er sprake van blootstelling aan mengsels van stoffen. Om dit te onderzoeken hebben we meegewerkt aan het Europese project MIXTOX, waarin een model is ontwikkeld om de toxiciteit van mengsels goed te kunnen beschrijven en interpreteren (Jonker et al., 2005; Bongers, 2007). Dit project kreeg een vervolg in het project NoMiracle, waarin we ook aspecten als toxicokinetiek en toxicodynamiek hebben betrokken bij de interpretatie van effecten van stoffen in mengsels (Van Gestel et al., 2011). De laatste jaren is er ook aandacht voor de effecten van nieuwe typen stoffen, zoals nanodeeltjes en microplastics, die we in de projecten NanoFATE, NanoFASE en IMPASSE onderzochten. Ook is er aandacht voor de interactie tussen chemische stoffen en andere stressfactoren, zoals klimaatverandering. Bovendien wordt de laatste jaren meer en meer aandacht besteed aan effecten op het functioneren van de bodem in de zogenaamde ecosysteemdiensten, waarbij functionele eindpunten en een trait-based benadering toegepast worden; hierover straks meer. En in al dit onderzoek hebben we steeds aandacht gegeven aan *biologische beschikbaarheid* als een cruciale factor in de blootstelling van organismen in de bodem.

Bestrijdingsmiddelen en andere stressfactoren in de bodem

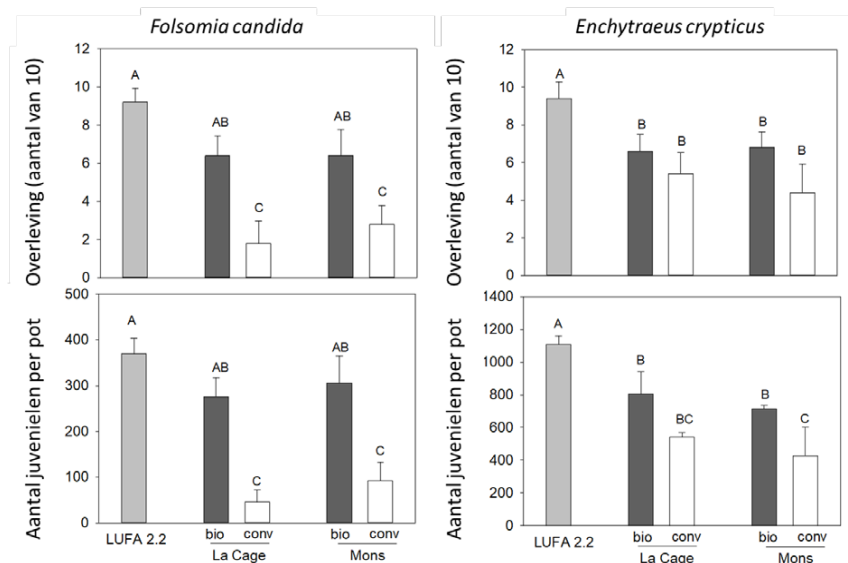
Bestrijdingsmiddelen vormen een groep van stoffen die direct aanleiding geven tot zorg. Een aantal jaren geleden werkte ik met Tjeerd Blacquiere van de Wageningen Universiteit aan een overzichtsartikel over de toxiciteit van neonicotinoïden voor honingbijen. Dit was toen een hot item, ook politiek, wat bleek uit de niet altijd erg wetenschappelijke, maar wel zeer felle en ongenueanceerde commentaren, die wij kregen op ons artikel (Blacquiere et al., 2012). Wetenschappelijk is het echter een zeer interessant onderwerp. Een aantal van deze neonicotinoïden wordt of werd gebruikt als zaadbehandelingsmiddel.

Deze stoffen zijn systemisch: ze worden door de plant opgenomen uit het zaadje, en verspreiden zich dan door de plant. Daarmee is de hele plant beschermd tegen vraat door insecten. Helaas bereiken deze stoffen ook de bloemen, waardoor bestuivende insecten als bijen en hommels eraan worden blootgesteld via nectar en pollen. Dat is natuurlijk geen gewenst effect. Wat mij echter vooral opviel, was dat het grootste deel van de dosering, die aan het zaadje werd toegevoegd, in de bodem achterbleef. Niemand leek zich druk te maken over de vraag of dit een gevaar met zich mee zou kunnen brengen voor het leven in de bodem.

Wij zijn toen gestart met onderzoek naar de effecten van deze stoffen op bodemorganismen. PhD studente Claudia de Lima e Silva en enkele BSc en MSc studenten lieten zien dat springstaarten, bodemorganismen die nauw verwant zijn aan insecten, zoals verwacht erg gevoelig zijn voor deze insecticiden (Van Gestel et al., 2017; de Lima e Silva et al., 2018). Maar tegen de verwachting in bleken ook regenwormen zeer gevoelig te zijn, vrijwel even gevoelig als de springstaarten (de Lima e Silva et al., 2017). De EC_{50} , de concentratie waarbij 50% effect optreedt, lag voor verschillende neonicotinoiden tussen 100 en 500 $\mu\text{g/kg}$ (de Lima e Silva et al., 2017). Student Sam van Loon liet onlangs zien dat de standaardtest met regenwormen het risico eigenlijk nog onderschat: wanneer regenwormen al van jongs af aan en gedurende een veel langere periode worden blootgesteld aan deze stoffen, blijken al effecten op te treden bij nog lagere concentraties. De PNEC ligt dus, nog zonder toepassing van een veiligheidsfactor, al ruim onder 100 $\mu\text{g/kg}$. Met een dosis van 30-70 g/ha komt de blootstellingsconcentratie, de PEC, in de bovenste 5 cm van de bodem op ongeveer 30-70 $\mu\text{g/kg}$, dus slechts een factor 2-3 lager. Wanneer het middel meerdere keren per seizoen wordt toegepast, is de PEC gelijk of zelfs hoger dan de PNEC, en dat is ook het geval wanneer we rekening zouden houden met de hogere gevoeligheid van de wormen bij langere blootstelling. Er is dus een grote kans op effecten op regenwormen en springstaarten, en daarmee loopt het hele bodemecosysteem gevaar. Eigenlijk vreemd dat deze middelen zijn toegelaten. Kennelijk wist de industrie deze effecten uit het toelatingsdossier te houden. Hier doet zich het feit voor, dat de regelgeving meestal achter de feiten aanloopt. Dat was al zo in de tijd van Rachel Carson, en dat is ook nu nog het geval.

Maar is er nu echt een probleem? Enkele jaren geleden raakte ik via Clémentine Fritsch en Renaud Scheifler van de Université de Franche-Comté in Besançon, en Céline Pelosi en Colette Bertrand van het INRA in Avignon respectievelijk Versailles, betrokken bij het Franse project RESCAPE (RESistance of

agricultural landSCAPes to pesticide transfers in soils and living organisms). In dit project zijn gehalten aan bestrijdingsmiddelen in landbouwgronden gemeten. Percelen met gangbare landbouw bleken vaak residuen te bevatten van verschillende bestrijdingsmiddelen. Ik stelde voor om deze gronden ook te onderzoeken op hun mogelijke giftigheid voor bodemorganismen. Eind 2018 zijn hiervoor een viertal gronden bemonsterd in twee gebieden in Frankrijk. De gronden van gangbare landbouw bevatten diverse bestrijdingsmiddelen, zoals imidacloprid, in één van de gronden zelfs in een concentratie dicht bij die waarbij we effecten zagen in onze laboratoriumtesten. PhD studente Speranza Panico uit Napels, die deze gronden heeft getest tijdens een stage op onze afdeling, vond een veel lagere overleving en voortplanting van springstaarten en potwormen op de gronden van de gangbare landbouw in vergelijking met de controle en de gronden van biologische landbouw (Figuur 3).



Figuur 3: Overleving (boven) en voortplanting (onder) van de springstaart *Folsomia candida* (links) en de potworm *Enchytraeus crypticus* (rechts) in de standaard controle grond LUFA 2.2 en twee gronden van biologische landbouw (bio) en twee gronden van gangbare landbouw (conv) uit La Cage en Mons, Frankrijk. De gronden van gangbare landbouw bevatten residuen van enkele bestrijdingsmiddelen en laten daarom een lagere overleving en voortplanting zien van beide bodemdieren. Kolommen met dezelfde letter verschillen niet significant van elkaar.

Eén van de twee geteste regenwormsoorten liet geen verlaagde overleving zien, maar wel een sterk gewichtsverlies en een veel lagere voortplanting, terwijl de andere soort een hoge sterfte liet zien op de gronden van de gangbare landbouw, maar niet op die van de biologische landbouw. Kortom, grond tot zorg, want ondanks het feit dat de residugehalten vrij laag waren, bleken de gronden van de gangbare landbouw toch sterke effecten te hebben op alle geteste organismen. Mogelijk is het effect van de mengsels van bestrijdingsmiddelen sterker dan wanneer de stoffen alleen voorkomen. En misschien zijn er ook andere stoffen aanwezig, die niet gemeten zijn maar wel bijdragen aan het effect. Dit behoeft nader onderzoek.

Is dit een probleem dat alleen Franse gronden betreft? Nee. Recent zijn enkele studies verschenen, die de bevindingen van onze Franse collega's bevestigen. Ook deze studies laten residuen van bestrijdingsmiddelen in de bodem zien. Silva et al. (2019) onderzochten een groot aantal Europese akkerbouwgronden en vonden in het grootste deel van deze gronden residuen van meerdere bestrijdingsmiddelen. Onder de meest gevonden bestrijdingsmiddelen werden imidacloprid en, opvallend, ook DDT aangetroffen. De studie van Buijs & Samwel-Mantingh (2019) op veehouderijbedrijven in Gelderland kwam tot dezelfde bevindingen. Hoewel de meeste werkzame stoffen vaak slechts in lage concentraties aanwezig waren, is het goed op te merken dat deze stoffen erg giftig zijn, dus ook al bij lage blootstellingsniveaus effect hebben. En er is vrijwel altijd sprake van mengsels van insecticiden, fungiciden en herbiciden. Dus ook hier grond tot zorg. De situatie wordt nog zorgelijker wanneer je bedenkt dat er ook veel andere mogelijk schadelijke stoffen in de bodem terechtkomen, zoals metalen, polycyclische aromaten, nanodeeltjes en microplastics.

Verstoring van de biodiversiteit in de bodem en de interacties tussen soorten kan verstrekken gevolgen hebben voor het functioneren van het bodemecosysteem (Tsiafouli et al., 2015). Dat functioneren betreft processen die niet alleen van belang zijn voor de bodem als ecosysteem, maar ook voor een duurzame landbouw. In een gezonde bodem zorgt het samenspel tussen organismen niet alleen voor een goed functioneren van processen als strooiselafbraak en de kringloop van nutriënten, maar ook voor het onder de duim houden van ziekteverwekkers (Wall et al., 2015; El Mujtar et al., 2019). Het voorbeeld van het effect van benomyl op regenwormen in boomgaarden liet dit al zien. De rol van regenwormen in het bestrijden van plaagorganismen werd recent ook benadrukt door Plaas et al. (2019). Reden dus om de regenworm in het zonnetje

te zetten, zoals recent gebeurde in het weekblad Science (25 oktober 2019). Het is dus zaak om verstoring van deze processen in de bodem te voorkomen. Dit is ook het doel dat de Verenigde Naties in 2015 stelde in het rapport “Transforming our world: The 2030 Agenda for Sustainable Development”. Het promoten van een duurzame landbouw is één van de beschermdoelen van de Verenigde Naties, het beschermen, herstellen en promoten van een duurzaam gebruik van terrestrische ecosystemen, en het stoppen van bodem degradatie en verlies van biodiversiteit zijn andere doelen.

Inhoud van de leerstoel Ecotoxicology of soil ecosystems

Aan deze doelen wil ik vanuit de nieuwe leerstoel graag bijdragen, door de mogelijke ecologische effecten van stoffen in de bodem in kaart te brengen. Hoe gaan we dat aanpakken?

In de bodemecotoxicologie is het gebruikelijk om de giftigheid van stoffen te onderzoeken in standaard-toxiciteitstesten, met slechts enkele testorganismen (o.a. regenwormen, springstaarten) en onder gestandaardiseerde, vaak optimale omstandigheden. Iedere stof wordt daarbij afzonderlijk getest. Dat geeft echter geen goed beeld van de situatie in de praktijk. Mijn focus zal daarom liggen op blootstelling onder veld-realistische omstandigheden. Dat vraagt om een *teeltbenadering* (cf. Van Hoesel et al., 2017), waarbij wordt nagegaan welke middelen op een bepaald gewas worden toegepast, op welke wijze, in welke hoeveelheden, en hoe vaak per seizoen. In een teeltbenadering kan worden vastgesteld in welke mate bodemdieren worden blootgesteld, aan welke stoffen en vooral ook aan welke *mengsels* van stoffen. Het gaat dan om een *dynamische blootstelling*, aan steeds wisselende combinaties van stoffen. Ook zal rekening gehouden moeten worden met enerzijds de verdeling van de stoffen in de bodem, en anderzijds het natuurlijke gedrag van de bodemdieren. Komen ze wel of niet op plaatsen waar de stof zich bevindt? En er moet rekening worden gehouden met het effect van bodemeigenschappen op de *biologische beschikbaarheid* van de stoffen. Student Afolarin Ogungbemi liet zien dat het effect van een stof als imidacloprid niet alleen wordt bepaald door het gehalte aan organische stof maar ook door het kleigehalte in de bodem. Ook voor imidacloprid bleek de concentratie in het poriewater uiteindelijk een belangrijke factor die de toxiciteit bepaalt (Ogungbemi & Van Gestel, 2018), zoals ik eerder vond voor andere stoffen (Van Gestel, 2008, 2012). Bij het bepalen van de biologische beschikbaarheid zullen we niet alleen chemische factoren mee moeten nemen. We zullen

ook het biologische aspect van biologische beschikbaarheid moeten ontrafelen om dit concept echt te kunnen begrijpen. Tot op heden is dat aspect naar mijn mening nog te veel ondergeschikt geweest aan de chemische benadering.

Ook is het van belang om de effecten van bestrijdingsmiddelen te onderzoeken tegen het licht van de *klimaatverandering* waar we mee te maken hebben. We zullen daartoe ook de invloed van factoren als hogere temperaturen of extreme droogte mee moeten nemen. Dit wordt al gedaan in het MULTICLIM project aan de universiteit van Oslo. Daar mag ik, samen met mijn Noorse collega Katrine Borgå, PhD studente Silje Kristiansen begeleiden bij haar promotieonderzoek naar de invloed van de temperatuur op de toxiciteit van imidacloprid voor twee soorten springstaarten, afkomstig uit gebieden met een verschillende klimaat.

Omdat blootstelling niet statisch is, zal een dynamische benadering vereist zijn. Kennis van de *toxicokinetiek* en *toxicodynamiek* is essentieel om te achterhalen hoe stoffen in een dynamisch milieu werken. Dit is nog belangrijker wanneer er sprake is van blootstelling aan *mengsels* van stoffen, waarbij de ene stof sneller of langzamer wordt opgenomen dan de andere: dat leidt dan tot een andere samenstelling van het mengsel in het organisme dan in de omgeving.

De meeste standaard toxiciteitstesten met bodemdieren hebben een vaste blootstellingsduur: na 28 dagen blootstelling wordt het effect op overleving of reproductie vastgesteld. Maar wanneer sprake is van een persistente stof, zullen organismen veel langer worden blootgesteld. Toxiciteit is het product is van blootstellingsconcentratie en *blootstellingsduur*. Vaak neemt de toxiciteit toe bij toename van de blootstellingsduur, zoals is aangetoond in het werk van verschillende promovendi (zie bijvoorbeeld: Ardestani et al., 2014; Crommentuijn et al., 1994; He & Van Gestel, 2013; Widianarko et al., 2001; Zhang et al., 2019). Effecten kunnen zich versterken wanneer er sprake is van blootstelling over een hele *levenscyclus*. Dit werd al aangetoond door Timco van Brummelen voor de effecten van polycyclische aromaten op pissebedden (Van Brummelen et al., 1996), en door Sam van Loon voor het effect van neonicotinoïden op de groei en geslachtelijke ontwikkeling van regenwormen. Miriam Leon-Paumen en Jeroen Noordhoek lieten zien dat polycyclische aromaten en nano-deeltjes een sterker effect hadden op springstaarten na een blootstelling over *meerdere generaties* dan in de standaardtest die slechts één generatie beslaat (León Paumen et al., 2008; Noordhoek et al., 2018). Dit toont het belang van een langer durende blootstelling voor een meer realistische schatting van de effecten van persistente stoffen in de

bodem. Lange-termijn testen kunnen ook inzicht geven in de kans dat een ecosysteem zich weer kan herstellen, een punt dat ook in het toelatingsbeleid voor bestrijdingsmiddelen steeds meer aandacht krijgen (Brock et al., 2018).

Uiteindelijk doel van ons onderzoek is bij te dragen aan een nieuwe, geïntegreerde analyse van de ecotoxicologische effecten van stoffen in de bodem. Deze benadering moet de ecologische factoren meenemen, die effecten kunnen verklaren op het niveau van het individuele organisme, zoals we dat testen in het laboratorium, en ook op hogere biologische organisatieniveaus. Dit vereist het combineren van ecologische inzichten, zoals een *trait-based benadering*, met inzichten in biologische beschikbaarheid, mengseltoxiciteit, en toxicokinetiek en toxicodynamiek. Op deze manier kunnen we ons fundamenteel inzicht vergroten in de processen die leiden tot effecten op het functioneren van het ecosysteem en daarmee een bedreiging vormen voor de gezondheid van de bodem.

Ik voorzie twee lijnen van onderzoek, met als basis realistische blootstellingsscenario's:

1. Bepalen van het effect op *individuele soorten van bodemdieren* van de chronische blootstelling aan stoffen, apart en in veldrelevante mengsels, en met bepaling van multi-generatie en levenscyclus-effecten. Dit onderzoek zal worden uitgevoerd met soorten gekozen op basis van hun hoge gevoeligheid voor de gekozen teststoffen of een naar verwachting hoge mate van blootstelling. Naast het bepalen van toxiciteit na langdurige blootstelling, zullen we ook de toxicodynamiek proberen vast te stellen. Dit kan helpen de eigenschappen (traits) vast te stellen van soorten die met name gevoelig zijn, of die indicatief zijn voor een hoge gevoeligheid voor bepaalde typen chemische stoffen.
2. Bepalen van de effecten van chemische stoffen op *levensgemeenschappen van soorten* in de bodem, onder meer realistische blootstellingsomstandigheden en rekening houdend met natuurlijke interacties tussen soorten. Dit onderzoek zal gebruik maken van meer ecologisch relevante maar ook meer complexe testsystemen, zoals Terrestrische Model Ecosystemen (TMEs) of het recent door Oscar Franken ontwikkelde CLIMECS (CLImatic Manipulation of Ecosystem Samples; www.climecs.com) systeem van mesocosms. Dit zal nieuwe inzichten geven in effecten op interacties tussen soorten en hun mogelijke gevolgen voor het functioneren van het bodemecosysteem. Dit

onderzoek zal ook meer aandacht besteden aan de rol van blootstelling in de per definitie heterogene omstandigheden in de bodem.

Trait-based benaderingen, die nog zelden zijn toegepast in de bodemecotoxicologie, kunnen deze twee lijnen van onderzoek verbinden. De *traits* die we in de eerste lijn identificeren kunnen worden gebruikt om de effecten te begrijpen die worden gezien in de tweede lijn. Traits, ofwel eigenschappen van soorten die indicatief zijn voor de mate van blootstelling maar ook voor hun gevoeligheid, zijn daarmee van belang in beide lijnen van onderzoek. Voor dit onderzoek zal ik samenwerken met collega Matty Berg, die de trait-benadering al een aantal jaren toepast in zijn onderzoek naar de rol van bodemdieren in het functioneren van bodemecosystemen in relatie tot klimaatverandering. De kennis die hij in dat onderzoek heeft opgedaan zal van groot belang zijn ook voor mijn onderzoek.

De trait-benadering gaan we ook toepassen in het onlangs verworven Marie-Sklodowska-Curie training netwerk PRORISK, waarin we samen met 17 andere Europese partners 15 promovendi mogen gaan opleiden. Deze promovendi gaan werken aan alle stappen in de keten van blootstelling naar effecten op diverse biologische organisatieniveaus, van moleculair en biochemisch tot levensgemeenschap en ecosysteemdiensten. In samenwerking met collega's Marja Lamoree en Pim Leonards van de afdeling Environment & Health en Matty Berg van onze eigen afdeling zullen we twee promovendi onder onze hoede nemen. Daarnaast zullen we bijdragen aan de training van de andere 13 promovendi in het netwerk.

Met dit onderzoek hoop ik ook een bijdrage te kunnen leveren aan de discussie over de formulering van specifieke beschermdoelen voor bestrijdingsmiddelen, die op dit moment op Europees niveau wordt gevoerd. Het betreft beschermdoelen met betrekking tot biodiversiteit en tot de ecosysteemdiensten die de bodem ons biedt. Deze beschermdoelen moeten een duurzaam gebruik van de bodem waarborgen en daarmee recht doen aan de belangen van de landbouw zonder de belangen van natuur en milieu aan te tasten.

Ecotoxicologie en onderwijs

Als hoogleraar sta je met één been in het onderzoek en het andere in het onderwijs. Voortdurend word je geconfronteerd met discussies over het belang van het één of van het ander, en het conflict tussen beide. Tijd die je moet besteden aan onderwijs kun je immers niet inzetten voor onderzoek en omgekeerd. Ik herken

me daar wel in. Anderzijds ben ik van mening dat onderwijs toch de primaire taak is van de universiteit. “*Onderwijs gaat vóór*” was het adagium dat me werd voorgehouden toen ik in dienst trad van de VU. Dit principe ondersteun ik van harte, ook al wringt het soms met de wens om ook op het gebied van het wetenschappelijk onderzoek vooraan te staan. Natuurlijk, onderwijs geven kost veel tijd en energie. Energie die soms ook verloren gaat door de voortdurende worsteling met systemen van onderwijsmanagement en roostering van vakken, die bedacht lijken te zijn om docenten tegen te werken in plaats van te helpen. Maar je krijgt bij het geven van onderwijs ook wat terug. Wat is er nu mooier dan kennis te mogen doorgeven aan een jonge generatie? Het is dan ook een genoegzaam onderwijs te mogen geven aan studenten van verschillende opleidingen en op verschillende niveaus. Ik geniet ervan studenten te zien groeien tijdens hun studie, van schuchtere, soms wat minder gemotiveerde, eerstejaars tot volwassen mensen die weten wat ze willen. Ik hoop dat ik mijn vakgebied ook in de toekomst aandacht mag blijven geven in het onderwijs van onze faculteit.

Een instrument dat daarbij zeker kan helpen, is het “Open Online Textbook Environmental Toxicology” (Van Gestel et al., 2019). Dit boek is het resultaat van een project, dat via SURF werd gesponsord door het Ministerie van Onderwijs, Cultuur en Wetenschap. Dit project mocht ik uitvoeren met collega’s van onze eigen universiteit en van vijf andere universiteiten, die ecotoxicologie of milieutoxicologie in het curriculum hebben. Ook veel collega’s uit binnen- en buitenland hebben bijgedragen aan de totstandkoming van dit boek, als auteur of als reviewer. Ons boek is modulair. Iedere module bestaat uit een korte inhoudelijke tekst met één of enkele leerdoelen en een paar oefenvragen. De modules beslaan een groot aantal elementen uit ons vakgebied. We hopen dat we met dit boek een goede basis hebben gelegd voor het onderwijs in de ecotoxicologie en milieutoxicologie, zowel nationaal als internationaal. Ik wil mijn collega’s bedanken voor de fijne samenwerking. Toen deze klus op ons pad kwam, was het hartverwarmend om binnen één dag van jullie allemaal een positieve reactie te mogen ontvangen. Het was geen makkelijke klus, maar het resultaat mag er zijn. Ik ben er trots op dat we dit voor elkaar hebben gekregen.

Dankwoord

Graag wil ik het College van Bestuur van de Vrije Universiteit en het bestuur van de Faculteit der Bètawetenschappen bedanken voor mijn benoeming tot hoogleraar en het in mij gestelde vertrouwen.

Collega's Jacintha Ellers en Rien Aerts wil ik hartelijk bedanken voor hun rol in het realiseren van deze leerstoel. Hoewel Rien het eerder al eens suggereerde (en ik het kennelijk nog niet zo nodig vond), vond Jacintha dat het er nu toch maar eens van moest komen: ik moest hoogleraar worden. Bedankt voor jullie doorzettingsvermogen en het vertrouwen dat jullie in me hebben gesteld. Ik hoop dat we nog een aantal jaren mogen samenwerken in onderwijs en onderzoek.

Een bijzonder woord van dank voor collega Nico van Straalen, mijn leermeester en vele jaren mijn steun en toeverlaat. Beste Nico: wij leerden elkaar kennen in een normstellingscommissie, waarvan ik voorzitter was. Jij trad op als mijn copromotor, en haalde me in 1992 naar de VU. In al die jaren aan de VU hebben we samen vele studenten mogen trainen en veel promovendi mogen begeleiden. Hartelijk dank voor alle wijze lessen en voor de prettige samenwerking.

Graag bedank ik alle collega's met wie ik onderwijs mag geven voor de fijne samenwerking. Ik wil daarbij ook de mensen betrekken die ondersteuning geven aan het onderwijs, van het verzorgen van spullen voor practica tot het regelen van zalen en het organiseren van de tentamens. Waar zouden we zijn zonder jullie inzet? Heel erg bedankt.

During the last 27 years, I had the pleasure to be involved in many international projects. This, and my activities in SETAC Europe, did not only bring many new contacts, but also many friendships all over Europe and beyond. Thanks to all colleagues for the pleasant collaboration.

In de afgelopen jaren heb ik vele promovendi en studenten mogen begeleiden. Daarnaast kan ik me gelukkig prijzen met een zeer ruime belangstelling van studenten, promovendi, postdocs en collega's uit het buitenland, die gedurende kortere of langere stages de kneepjes van het vak komen leren. I want to thank all PhD and undergraduate students and all guests from abroad for their thrust in my expertise and for the pleasant cooperation. It is very stimulating having the opportunity to work with such a diverse community of people.

Dit was echter nooit mogelijk geweest zonder de voortdurende steun van Rudo Verweij, die op zeer efficiënte, geduldige en deskundige wijze al deze mensen onder zijn hoede neemt in het laboratorium. Rudo, heel hartelijk dank hiervoor. Graag wil ik ook Riet Vooijs, Janine Mariën en alle andere huidige en oud-analisten van de sectie Dierecologie bedanken voor hun inzet. Ook hartelijk dank

aan alle andere collega's en oud-collega's voor de fijne samenwerking en de warme sfeer op onze afdeling.

Tot slot wil ik onze kinderen bedanken voor hun geduld en vertrouwen, ook wanneer ik weer eens afwezig was, letterlijk vanwege een reis, of figuurlijk wanneer ik met mijn hoofd nog bij het werk was. Heel veel dank aan mijn lieve echtgenote Maria, met wie ik al meer dan 38 jaar lief en leed mag delen. Zonder jouw onvoorwaardelijke steun was het niet mogelijk geweest dit werk te doen, en hier vandaag te staan. Gelukkig ben je nu weer aan de beterende hand na dat vreselijk zware verkeersongeluk in februari vorig jaar. Ik hoop dat we nog vele jaren samen, en met onze kinderen en kleinkinderen, mogen genieten van het leven.

Ik dank u allen voor uw aandacht.

Ik heb gezegd.

Referenties

- Ardestani, M.M., Oduber, F., Van Gestel, C.A.M. (2014). A combined toxicokinetics and toxicodynamics approach to assess the effect of porewater composition on cadmium bioavailability to *Folsomia candida*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 33, 1570–1577.
- Blacquiere, T., Smagghe, G., Van Gestel, C.A.M., Mommaerts, V. (2012). Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. *Ecotoxicology* 21, 973-992.
- Bongers, M. (2007). Mixture toxicity of metals to *Folsomia candida* related to (bio)availability in soil. PhD Thesis 2007-03 of the Institute of Ecological Science, Vrije Universiteit Amsterdam.
- Brock, T., Bigler, F., Frampton, G., Hogstrand, C., Luttik, R., Martin-Laurent, F., Topping, C.J., van der Werf, W., Rortais, A. (2018). Ecological recovery and resilience in environmental risk assessments at the European Food Safety Authority. *Integrated Environmental Assessment and Management* 14, 586–591.
- Buijs, J., Samwel-Mantingh, M. (2019). Een onderzoek naar mogelijke relaties tussen de afname van weidevogels en de aanwezigheid van bestrijdingsmiddelen op veehouderijbedrijven. Onderzoeksrapport Buijs Agro-Services, Bennekom, Nederland.
- Carson, R. (1962). *Silent Spring*. Houghton Mifflin Company.
- Crommentuijn, T., Doodeman, C.J.A.M., Doornekamp, A., Van Der Pol, J.J.C., Bedaux, J.J.M., Van Gestel, C.A.M. (1994). Lethal body concentrations and accumulation patterns determine time-dependent toxicity of cadmium in soil arthropods. *Environmental Toxicology and Chemistry* 13; 1781-1789.
- De Lima e Silva, C., Brennan, N., Brouwer, J.M., Commandeur, D., Verweij, R.A., Van Gestel, C.A.M. (2017). Comparative toxicity of imidacloprid and thiacloprid to different species of soil invertebrates. *Ecotoxicology* 26, 555-564.
- De Lima e Silva, C., Mariette, J., Verweij, R.A., Van Gestel, C.A.M. (2018). Assessing the toxicity of thiamethoxam, in natural LUFA 2.2 soil, through three generations of *Folsomia candida*. *Ecotoxicology* 27, 764-771.
- Edwards, C.A., Lofty, R. (1973). Pesticides and the soil fauna. *Residue Reviews* 45, 1-79.
- El Mujtar, V., Muñoz, N., Prack Mc Cormick, B., Pulleman, M., Tittonell, P. (2019). Role and management of soil biodiversity for food security and nutrition: where do we stand? *Global Food Security* 20, 132-144.
- He, E., Van Gestel, C.A.M. (2013). Toxicokinetics and toxicodynamics of nickel in *Enchytraeus crypticus*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 32, 1835-1841.
- Jonker, M.J., Svendsen, S., Bedaux, J.J.M., Bongers, M., Kammenga, J.E. (2005). Significance testing of synergistic/antagonistic, dose level-dependent, or dose ratio-dependent effects in mixture dose-response analysis. *Environmental Toxicology and Chemistry* 24, 2701-2713.
- Kennel, W. (1972). Schadpilze als Objekte integrierter Pflanzenschutzmassnahmen im Obstbau. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten, Pflanzenpathology und Pflanzenschutz* 79, 400-406.
- Kennel, W. (1990). The role of the earthworm *Lumbricus terrestris* in integrated fruit production. *Acta Horticulturae* 285, 149-156.

- Knacker, T., Van Gestel, C.A.M., Jones, S.E., Soares, A.M.V.M., Schallnaß H.-J., Förster, B., Edwards, C.A. (2004). Ring-testing and field-validation of a Terrestrial Model Ecosystem (TME) - An instrument for testing potentially harmful substances: Conceptual approach and study design. *Ecotoxicology* 13, 9-27.
- León Paumen, M., Steenbergen, E., Kraak, M.H.S., Van Straalen, N.M., Van Gestel, C.A.M. (2008). Multigeneration exposure of the springtail *Folsomia candida* to phenanthrene: From dose-response relationships to threshold concentrations. *Environmental Science and Technology* 42, 6985-6990.
- Løkke, H., Van Gestel, C.A.M. (Eds.) (1998). *Handbook of Soil Invertebrate Toxicity Tests*. John Wiley, Sons, Ltd. 281 pp.
- Noordhoek, J., Picipcelli, F., Barone, I., Franken, O., Montagne-Wajer, K., Mariën, J., Verweij, R.A., Van Gestel, C.A.M., Van Straalen, N.M., Roelofs, D. (2018). Phenotypic and transcriptional responses associated with multi-generation exposure of *Folsomia candida* to engineered nanomaterials. *Environmental Science: Nano* 5, 2426–2439.
- OECD (1984). Guideline for Testing of Chemicals, No. 207. Earthworm Acute Toxicity Tests. Adopted April 1984. Organization for Economic Cooperation and Development, Paris.
- Ogungbemi, A., Van Gestel, C.A.M. (2018). Extrapolation of Imidacloprid toxicity between soils by exposing *Folsomia candida* in soil pore water. *Ecotoxicology* 27, 1107-1115.
- Plaas, E., Meyer-Wolfarth, F., Banse, M., Bengtsson, J., Bergmann, H., Faber, J., Potthoff, M., Runge, T., Schrader, S., Taylor, A. (2019). Towards valuation of biodiversity in agricultural soils: A case for earthworms. *Ecological Economics* 159, 291-300.
- Sánchez-Bayo, F., Wyckhuys, K.A.G. (2019). Worldwide decline of the entomofauna: A review of its drivers. *Biological Conservation* 232, 8-27.
- Sheals, J.G. (1953). Effect of DDT and BHC on soil arthropods. *Nature* 171, 978.
- Sheals, J.G. (1956). Soil population studies. I. - The effects of cultivation and treatment with insecticides. *Bulletin of Entomological Research* 47, 803-822.
- Silva, V., Mol, H.G.J., Zomer, P., Tienstra, M., Ritsema, C.J., Geissen, V. (2019). Pesticide residues in European agricultural soils - A hidden reality unfolded. *Science of the Total Environment* 653, 1532-1545.
- Stringer, A., Wright, M.A. (1973). The effect of benomyl and some related compounds on *Lumbricus terrestris* and other earthworms. *Pest Management Science* 4, 165-170.
- Tsiafouli, M.A., Thébault, E., Sgardelis, S.P., de Ruiter, P.C., van der Putten, W.H., Birkhofer, K., Hemerik, L., de Vries, F.T., Bardgett, R.D., Brady, M.V., Bjornlund, L., Jørgensen, H.B., Christensen, S., Hertefeldt, T.D., Hotes, S., Gera Hol, W.H., Frouz, J., Liiri, M., Mortimer, S.R., Setälä, H., Tzanopoulos, J., Uteseny, K., Pižl, V., Stary, J., Wolters, V., Hedlund, K., (2015). Intensive agriculture reduces soil biodiversity across Europe. *Global Change Biology* 21, 973-985.
- Van Brummelen, T.C., Van Gestel, C.A.M., Verweij, R.A. (1996). Long-term toxicity of five polycyclic aromatic hydrocarbons for the terrestrial isopods *Oniscus asellus* and *Porcellio scaber*. *Environmental Toxicology and Chemistry* 15, 1199-1210.

- Van Gestel, C.A.M. (2008). Physico-chemical and biological parameters determine metal bioavailability in soils. *Science of the Total Environment* 406, 385-395.
- Van Gestel, C.A.M. (2012). Soil ecotoxicology: State of the art and future directions. *Zookeys* 176, 275-296.
- Van Gestel, C.A.M., Van Belleggem, F.G.A.J., Van den Brink, N.W., Droge, S.T.J., Hamers, T., Hermens, J.L.M., Kraak, M.H.S., Löhr, A.J., Parsons, J.R., Ragas, A.M.J., Van Straalen, N.M., Vijver, M.G. (Eds.) (2019). *Environmental Toxicology, an open online textbook*. https://maken.wikiwijs.nl/147644/Environmental_Toxicology_an_open_online_textbook
- Van Gestel, C.A.M., Jonker, M.J., Kammenga, J.E., Laskowski, R., Svendsen, C. (Eds.). (2011). *Mixture toxicity. Linking approaches from ecological and human toxicology*. SETAC Press, Society of Environmental Toxicology and Chemistry, Pensacola.
- Van Gestel, C.A.M., De Lima e Silva, C., Lam, T., Koekkoek, J.C., Lamoree, M.H., Verweij, R.A. (2017). Multigeneration toxicity of imidacloprid and thiacloprid to *Folsomia candida*. *Ecotoxicology* 26, 320-328.
- Van Hoesel, W., Tiefenbacher, A., König, N., Dorn, V.M., Hagenguth, J.F., Prah, U., Widhalm, T., Wiklicky, V., Koller, R., Bonkowski, M., Lagerlöf, J., Ratzenböck, A., Zaller, J.G. (2017). Single and combined effects of pesticide seed dressings and herbicides on earthworms, soil microorganisms, and litter decomposition. *Frontiers in Plant Science* 8:215. doi: 10.3389/fpls.2017.00215
- Wall, D.H., Nielsen, U.N., Six, J. (2015). Soil biodiversity and human health. *Nature* 528, 69-76.
- Widianarko, B., Kuntoro, F.X.S., Van Gestel, C.A.M., Van Straalen, N.M. (2001). Toxicokinetics and toxicity of zinc under time-varying exposure in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Environmental Toxicology and Chemistry* 20, 763-768.
- Zhang, L., Belloc da Silva Muccillo, V., Van Gestel, C.A.M. (2019). A combined toxicokinetics and toxicodynamics approach to investigate delayed lead toxicity in the soil invertebrate *Enchytraeus crypticus*. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 169, 33-39.

